

Aus dem Bakteriologisch-Serologischen Institut
des
Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Heidelberg
(Chefarzt: Prof. Dr. med. F. Heiss)

**Untersuchung zum Antiglobulin-Konsumtionstest
mit Thrombozyten**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig - Universität Gießen

vorgelegt von
Günter Schulte
aus Duisburg

Gießen 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545915_0085

Aus dem Bakteriologisch-Serologischen Institut
des
Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Heidelberg
(Chefarzt: Prof. Dr. med. F. Heiss)

**Untersuchung zum Antiglobulin-Konsumtionstest
mit Thrombozyten**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät

der Justus Liebig - Universität Gießen

vorgelegt von
Günter Schulte
aus Duisburg

Gießen 1969



Dekan:	Prof. Dr. med. E. Habermann
Referent:	Prof. Dr. med. F. Heiss
Korreferent:	Prof. Dr. med. H. J. Eggers

Inhalt

A. Einleitung

Seite:

- | | | |
|-----|---|---|
| I. | Allgemeines zur Immunologie und zu Autoimmunphänomenen | 2 |
| II. | Über die Immunologie der Thrombozyten unter besonderer Berücksichtigung ihrer Autoimmunopathien | 5 |

B. Hauptteil

- | | | |
|------|---------------------------------------|----|
| I. | Literaturübersicht | 9 |
| II. | Untersuchungen zur Methodik | 14 |
| III. | Ergebnisse der eigenen Untersuchungen | 21 |
| IV. | Diskussion | 33 |

C. Schluß

- | | | |
|-----|----------------------|----|
| I. | Zusammenfassung | 36 |
| II. | Literaturverzeichnis | 38 |

A. Einleitung

I. Allgemeines zur Immunologie und zu Autoimmunphänomenen

Die Tatsache, daß nach einer überstandenen Infektionskrankheit länger dauernder, in manchen Fällen sogar lebenslanger Schutz gegen dieselbe Erkrankung bestehen kann, ist uraltes Erfahrungsgut der Menschheit. Bereits vor zweitausend Jahren benutzte man diese Kenntnis in Indien bei der Variolation. Wegen der großen Gefährlichkeit gelangte dieses Verfahren jedoch zu keiner größeren Bedeutung. Erst die wissenschaftliche Begründung der Kuhpockenimpfung durch JENNER (zit. bei 19) im Jahre 1796 verschaffte dieser Schutzimpfung allgemeinen Eingang in die praktische Medizin und führte damit zu einer starken Eindämmung der Pockenseuche. Trotz dieser alten Erfahrung vom Unempfindlichwerden des Organismus gegenüber Infektionen und den schon früh gezogenen Konsequenzen in der praktischen Medizin hat die eigentliche Erforschung dieses Phänomens, von EHRLICH als "Immunität" definiert, erst gegen Ende des vorigen Jahrhunderts mit den Entdeckungen PASTEURS begonnen und als Forschungszweig "Immunologie" in der Folgezeit ständig an Bedeutung gewonnen (9, 19).

Immunität ist ein komplexes Geschehen, in dem verschiedene Faktoren wirksam werden. Grundsätzlich hängt dieser Vorgang damit zusammen, daß bestimmte Stoffe als Antigene wirksam werden, indem sie im menschlichen Organismus die Produktion von Antikörpern anregen. Die Bindung zwischen beiden kann in der sog. Antigen-Antikörper-Reaktion zu einem charakteristischen, morphologisch definierten Zustand führen. Mit der Erforschung der verschiedenen Phänomene der Antigen-Antikörper-Reaktion in Laboratoriumsversuchen gelangen größere Fortschritte in der Erkenntnis dieser Zusammenhänge.

Durch Methoden, wie die Elektrophorese, Ultrazentrifugation und experimentelle Immunreaktionen war es möglich, die verschiedenen Antikörperarten voneinander zu trennen und einzelnen Plasmafraktionen zuzuordnen. Die Aufschlüs-

selung ihrer chemischen Natur und physikalischen Eigenschaften brachte neue Kenntnisse über Konfiguration und Charakter der Antikörper, sowie über ihre Entstehungs- und Wirkungsmechanismen. Die gewonnenen Erfahrungen führten insbesondere auch zu einer Modifizierung und Erweiterung der Theorie der Antigen-Natur, deren Grundforderung bis dahin großes Molekulargewicht, Eiweißnatur und Fremdartigkeit für den antikörperbildenden Organismus war. Nach STEFFEN (46) versteht man heute unter einem Antigen einen Stoff der belebten oder unbelebten Natur, der die Fähigkeit besitzt, in einem Organismus eine Immunantwort auszulösen und mit dem Produkt dieser Immunantwort in spezifischer Weise zu reagieren.

Die Forderung der Fremdartigkeit des Antigens für den antikörperbildenden Organismus, die EHRLICHs Postulat vom "Horror autotoxicus" entsprach, erfuhr eine entscheidende Einschränkung, nachdem es WITEBSKY und Mitarbeitern (49, 50) 1955 gelungen war, Antikörper gegen körpereigenes Gewebe des Organismus zu erzeugen. Sie injizierten Schilddrüsengewebe, das sie Kaninchen zuvor entnommen hatten, diesen Tieren wieder, worauf jene mit Antikörperbildung reagierten. Seitdem hat die Immunforschung eine Fülle von Beispielen der Antikörperbildung gegen körpereigene Substanzen erbracht. Die Begriffe Autoantigen, Autoantikörper, Autoimmunität etc. tragen dieser Erkenntnis Rechnung ebenso wie mehrere Krankheitsbilder, die durch die Annahme eines autoimmunpathologischen Geschehens eine brauchbare ätiologische Deutung erfahren, und bei denen mehrfach auch sog. Autoantikörper nachgewiesen werden konnten (24, 46).

Das Phänomen der Autoimmunisierung (1, 9, 46) kann als ein Sonderfall der Immunpathologie betrachtet werden, so daß es den gleichen Kriterien wie diese unterliegt. Auch bei der Autoimmunisierung steht das Antigen - hier Autoantigen - am Beginn der Kausalkette. Es löst die Autoimmunantwort aus, die dann in eine spezifische Reaktion mit dem Antigen tritt. Im Gegensatz zum normalen immunpathologischen Geschehen wird jedoch im Fall der Autoimmunisierung des Antigens nicht von außen zugeführt, sondern liegt bereits als potentiell antigenes Material - allerdings in einer immunologisch noch inaktiven Form -

im Organismus vor. Um tatsächlich eine antigene Wirkung zu erhalten, bedarf es eines besonderen Anlasses. Die Bedingung der Fremdartigkeit des Antigens für den antikörperbildenden Organismus behält in gewissem Sinne also seine Gültigkeit. Das könnte dadurch geschehen, daß native Zellen eine vorübergehende Alteration erfahren und dadurch antigene Eigenschaft erhalten. Es besteht andererseits die Möglichkeit, daß Zellen, die bisher abgekapselt im Organismus vorlagen, frei und damit antigen wirkend werden.

Eine dritte Möglichkeit besteht darin, daß ein vorübergehend ausgeschalteter Teil immunologisch kompetenter Zellgruppen aktiviert wird und dann, da genetisch vorbereitet, in der Lage ist, gegen bestimmte körpereigene Substanzen eine Immunantwort (Immunzelle oder Immunglobulin, d.h. Antikörper) zu bilden. Ist die Autoimmunisierung einmal in Gang gesetzt, wird der weitere Verlauf durch die sog. Antigen-Antikörper-Reaktion bestimmt.

Die Frage nach der pathogenetischen Bedeutung der nachgewiesenen Auto-Antikörper bei den sog. Auto-Aggressionskrankheiten wird unterschiedlich beurteilt. Das gilt insbesondere für die Gruppe der Kollagenosen, wie z. B. die rheumatischen Erkrankungen, der viszerale Erythematodes und die Periarteritis nodosa. Ein Teil der Autoren nimmt an, das spezifische Erscheinungsbild dieser Krankheit sei durch die Antigen-Antikörper-Reaktion bestimmt, es läge also ein echtes immunpathogenetisches Geschehen zugrunde. Andere hingegen sehen in den nachgewiesenen Auto-Antikörpern nur etwas Akzidentiellles bei einer unabhängig davon bestehenden Grundkrankheit (29), oder sie betrachten die Auto-Antikörper als einen sekundären, den chronischen Verlauf bewirkenden (28) oder unterhaltenden (18) Faktor. Einer Übersicht MOESCHLINs aus dem Jahre 1960 folgend (zit. nach 31) kann man den genannten Krankheitsbildern die große Gruppe der Immunhämopathien gegenüberstellen: Immunerythrozytopenien (hämolytische Anämien), Immunleukopenien und Immunagranulozytosen sowie Immunthrombozytopenien (ITP) und allergische Immunthrombozytopenien. Für diese ist die Immun- bzw. Autoimmunpathogenese allerdings unbestritten. Die Autoimmunopathien der Thrombozyten sind für dieses Thema von besonderem Interesse (4, 8, 24, 45).

II. Über die Immunologie der Thrombozyten unter besonderer Berücksichtigung ihrer Autoimmunopathien

Fragestellung

Die Thrombozyten unterliegen als Zellen des Organismus im Falle eines gegen sie gerichteten immunpathologischen Geschehens dem allgemeinen Mechanismus der zytotoxischen Antikörperwirkung. Diese tritt bei zirkulierenden, aktiv oder passiv beweglichen Einzelzellen nach den bisherigen Kenntnissen in Form einer Agglutination, Hämolyse-Zytolyse (nach Komplementaktivierung) oder in einer spezifischen Antikörperbeladung der Zelle auf. Folge der beschriebenen Wirkung ist im allgemeinen eine Schädigung der Zelle mit beschleunigter Eliminierung (46).

Es liegen umfangreiche Untersuchungen über die Antigenstruktur der Thrombozyten vor (24). Man fand u. a. gewebe- und thrombozytenspezifische Antigene, die unabhängig von denen der übrigen Blutzellen sind, ferner dem erythrozytären System korrespondierende ABO-Gruppen-Antigene sowie Antigene des Rh-Systems (z. B. -D, -C, -E und -e). Auch werden als Ursache von Transfusionszwischenfällen und bestimmten Formen von Neugeborenen-Thrombopenie (24) thrombozytäre, vom Erythrozytensystem unabhängige Iso-Antikörper festgestellt. Dagegen scheinen nach den bisherigen Erfahrungen erythrozytäre Iso-Antikörper in Form von Anti-A oder -B den korrespondierenden Thrombozyten-Antigenen-A und -B gegenüber nicht wirksam zu sein.

Für die Autoimmunopathien haben diese primär bereits vorhandenen antigenen Strukturen der Thrombozyten wahrscheinlich keine Bedeutung. Zunächst nämlich muß eine Änderung des primär bestehenden Zustandes, sei es am Antigen (hier Thrombozyten) oder am entsprechenden antikörperbildenden System eintreten, um das autoimmunologische Geschehen in Gang zu setzen.

Unter den durch Autoimmunisierung bedingten Thrombopenien hat die chronische

idiopathische thrombopenische Purpura (chronische ITP) wegen der Häufigkeit ihres Vorkommens und ihrer klinischen Bedeutung ein besonderes wissenschaftliches Interesse für die Erforschung pathogenetischer Einflüsse von Thrombozyten-Autoantikörpern erlangt. Man trennt sie deshalb von den übrigen Krankheiten, die mit einer gegen Thrombozyten gerichteten Autoantikörperbildung einhergehen wie z. B. der viszerale Erythematodes (15, 16, 23, 31), die erworbene hämolytische Anämie (7, 8) und die immunologisch bedingte Panzytopenie (4, 23, 27, 48). Die Hypothese ihrer autoimmunologischen Genese wurde erst in der Mitte des vorigen Jahrzehnts durch EVANS und DUANE (7) aufgestellt und ihre Richtigkeit in den Jahren danach durch wiederholt gelungenen Nachweis eines spezifischen Antikörpers, der inzwischen einer eingehenden physikalischen, chemischen und immunologischen Analyse unterzogen wurde, bewiesen. Man sieht in der Pathogenese der chronischen ITP eine typische Autoimmunaggression, deren Vorgang man wie folgt deutet: Nach Alteration einer nativen Zelle (Thrombozyten) infolge eines primär schädigenden Einflusses, meist eines Infektes, aber auch sonstiger physikalischer, chemischer, enzymatischer oder entzündlicher Art, kommt es zu einer Antikörperbildung gegen die Antigenfaktoren dieser Zelle. Der entstehende Antikörper reagiert jedoch nicht allein mit der alterierten Zelle, sondern analog einer Kreuzreaktion auch mit den unveränderten Thrombozyten. In der Folgezeit wiederholt sich dieser Vorgang ständig, ohne daß die schädigende Noxe erneut auftritt (46). Die durch Antikörperbeladung geschädigten Zellen werden rascher eliminiert, es kommt zu einer Thrombopenie. Der chronisch intermittierende Verlauf der ITP ist ein Kriterium für dieses als Autoaggressionskrankheit gedeutete Krankheitsbild.

Von ihr ist daher eine andere Form der thrombopenischen Purpura streng zu trennen, und zwar die durch eine allergische Reaktion auf ein Arzneimittel hervorgerufene Purpura. Bei diesem Krankheitsbild handelt es sich um eine allergische Zytopenie, deren immunpathologisches Geschehen im Gegensatz zur Autoimmunaggression auch als passive Immunaggression bezeichnet wird (46). Sie nimmt einen chronischen Verlauf. Ihre Pathogenese erfährt folgende Deutung: Nach Zuführung des Arzneimittels kommt es zu einer Adsorption dieser

Chemikalie an ein körpereigenes Protein, wodurch dieser Komplex antigene Eigenschaft mit einer durch die Chemikalie bestimmten Spezifität erhält. Der provozierte Antikörper bildet dann mit der Chemikalie einen Immunkomplex, der infolge einer bei vielen Allergosen zu findenden besonderen Affinität zu nativen Zellen sich einer Zelle anlagert, wodurch diese passiv in Mitleidenschaft gezogen wird. Denkbar wäre auch, daß die Chemikalie, an der nativen Zelle direkt adsorbiert, dort mit dem Antikörper in Reaktion tritt und dadurch die Zelle passiv geschädigt wird. Damit die Reaktion ablaufen kann, ist zum wesentlichen Unterschied von der Autoimmunaggression die ständige Anwesenheit der Noxe (Chemikalie) erforderlich. Fehlt sie, obwohl der spezifische Antikörper nachweisbar ist, so kommt es zu keiner Reaktion des Antikörpers mit dem Thrombozyten; eine Thrombopenie ist dann nicht nachweisbar (46).

Voraussetzung für Erkennen und Kenntnis aller pathologischen Zustände ist das Wissen um die normalen Verhältnisse. Das gilt insbesondere für die experimentelle Immunserologie. Die großen technischen Schwierigkeiten ihrer Methodik haben jedoch oft dazu geführt, allein vom klinischen Aspekt her Untersuchungen durchzuführen, wobei die Überprüfung bestimmter Fragestellungen an einem gesunden Kollektiv in manchen Fällen zu kurz kam.

Ein interessantes Beispiel für dieses Problem ist der Nachweis lenticulärer Antikörper beim grauen Star, in denen man zunächst die Ursache für dieses Krankheitsbild zu erkennen glaubte. Zumindest wurde vermutet, daß solche Antikörper als wichtiger pathogenetischer Faktor anzusehen sind. Daß diese Vorstellungen in dieser akzentuierten Form nicht richtig sein können, haben erst die Ergebnisse eingehender Untersuchungen an einem gesunden Kollektiv gezeigt, die HACKETT und THOMPSON (11) veröffentlicht haben. Sie konnten nachweisen, daß sich lenticuläre Antikörper auch im Serum gesunder Personen mit normalem Linsenbefund finden, und zwar in 50 % der untersuchten Fälle. Diese wissenschaftliche Arbeit macht deutlich, wie wichtig es ist, bei der Betrachtung immunologischer Probleme von den Verhältnissen bei Gesunden auszugehen. Aus diesem Grunde haben wir es unternommen, entsprechende Experimente zum Problem der thrombozytären Antikörper durchzuführen. Mit Hilfe

des von MIESCHER (24) als derzeit empfindlichstes Verfahren empfohlenen Antiglobulin-Konsumptionstest nach STEFFEN wollten wir ein größeres Kollektiv Gesunder auf humorale thrombozytäre Auto-Antikörper untersuchen. Dabei sollte die diffizile Methode anhand größerer Untersuchungszahlen überprüft werden, um damit auch gleichzeitig für andere Serumantikörper ein praktikables, reproduzierbares Untersuchungsverfahren für die Routinediagnostik dienstbar zu machen. Insbesondere sollte dabei berücksichtigt werden, inwieweit die von anderer Seite beschriebene "Basiskonsumption", die bei fast jedem getesteten Serum nachzuweisen ist, in Relation zum untersuchten Kollektiv zu bringen ist.

B. Hauptteil

I. Literaturübersicht

Mit der immungenetischen Konzeption der chronischen idiopathischen thrombopenischen Purpura (ITP) zu Anfang des vorigen Jahrhunderts (7) gewann der Nachweis von Antikörpern, die gegen Thrombozyten gerichtet sind, größere Bedeutung. Seit dieser Zeit findet man zahlreiche Veröffentlichungen, in denen über den Nachweis eines bei der Pathogenese mitverantwortlichen thrombozytären Antikörpers berichtet wird. Dagegen findet man nur vereinzelt Veröffentlichungen über die Untersuchung gesunder Personen und damit über Hinweise auf ein Vorkommen natürlicher Iso-Antikörper gegen Thrombozyten.

STEFANINI und PLITMAN (33) beschrieben 1952 in einer Arbeit über die Antigenizität von Thrombozyten und den Nachweis von thrombozytenspezifischen Gruppen beim Menschen das Vorkommen eines natürlichen, gegen Thrombozyten gerichteten Iso-Agglutinins in sechs Prozent ihrer untersuchten Fälle. Sie konnten sogar zwei verschiedene Arten dieser Agglutinine unterscheiden und mit deren Hilfe eine Differenzierung von Antigengruppen vornehmen.

Bei späteren Untersuchungen waren sie jedoch in der Lage, nachzuweisen, daß thrombozytäre Antikörper auch durch Sensibilisierung entstehen können. Dazu führten STEFANINI und CHATTERJEA (34) Transfusionsversuche am Menschen durch, mit deren Hilfe es gelang, später im Plasma dieser Menschen einen antithrombozytären Faktor nachzuweisen, der für die bei den Empfängern aufgetretene Thrombopenie verantwortlich gemacht werden mußte.

Bei Vergleichen mit Thrombopenien, die nachweislich durch Immunisierung ausgelöst waren, war die Aktivität der Antikörper des Normalserums geringer als jene des Immunserums. Darüber hinaus zeigte es sich, daß die durch die ersteren bewirkte Thrombopenie im Vergleich zu der durch die zweiten schwächer und kürzer dauernd war (20). HARRINGTON und Mitarbeiter (14) hielten

1953 das Vorkommen von thrombozytären Iso-Agglutininen sogar für ungewöhnlich. Diese Schlußfolgerung, die auf Ergebnissen an einem größeren Untersuchungsgut beruht, muß aus heutigen Aspekten deshalb kritisch beurteilt werden, weil das angewandte Nachweisverfahren wohl nicht allen Anforderungen gerecht wurde. Sie weisen aber auf die häufige Entstehung von Iso-Agglutininen gegen Thrombozyten infolge Immunisierung durch Transfusionen hin und sind der Auffassung, die beobachtete Verkürzung der Überlebenszeit von Thrombozyten nach wiederholten Transfusionen blutgruppengleichen Blutes sei zurückzuführen auf eine Antigen-Antikörper-Reaktion zwischen diesen Antikörpern und einem vom Erythrozytensystem unabhängigen Thrombozyten-Antigen (13).

Als weiteren Beweis für das nicht seltene Vorkommen thrombozytärer Iso-Immun-Antikörper kann die in der gleichen Arbeit (14) referierte Untersuchung über das Vorliegen von Thrombozyten-Antigenen dienen, bei denen es gelang, mit Hilfe von thrombozytären "Immun"-Seren polytransfundierter Patienten und von Schwangeren acht serologisch verschiedene Thrombozytengruppen zu differenzieren.

VERSTRAETE und VANDENBROUCKE (47) wiesen in drei von zehn Fällen Thrombozyten-Agglutinine bei polytransfundierten Patienten nach, wobei sie allerdings die Frage offen ließen, ob es sich hierbei um natürliche Iso-Agglutinine oder Immun-Iso-Agglutinine gehandelt habe.

Als Ursache einer Neugeborenen-Thrombopenie vermutet HARRINGTON 1953 in der oben zitierten Arbeit (14) eine Antigen-Antikörper-Reaktion der kindlichen Thrombozyten mit einem Immun-Antikörper der sensibilisierten Mutter entsprechend dem Morbus haemolyticus neonatorum. Zwei Fälle konnte er untersuchen, von denen in einem Fall bei der Mutter ein thrombozytäres Iso-Agglutinin gefunden wurde, das die Thrombozyten des Kindes agglutinierte, ohne daß eine Inkompatibilität der mütterlichen und kindlichen Erythrozyten vorhanden war.

STEFANINI und Mitarbeiter (37), SAUER und van LOGHEM (30) sowie

MOULINIER (26) berichten über entsprechende Befunde.

MAUPIN (22) und MOULINIER (26) fanden in einigen Fällen von hämolytischem Ikterus Neugeborener infolge diaplacentarer Übertragung eines mütterlichen inkompletten Anti-D-Antikörpers auf das Kind bei diesem ein gleichzeitiges Bestehen von thrombopenischer Purpura.

MIESCHER (24) vermutet, daß hier die Thrombozyten als Träger des Antigens D betroffen sind.

Neben diesen Berichten über Immun- und Iso-Antikörper finden sich in der Literatur auch zahlreiche Hinweise auf das Vorkommen von Thrombozyten-Auto-Antikörpern und die dadurch bedingten Krankheitsbilder. So begründeten EVANS und DUANE (7) in einer Arbeit über die erworbene hämolytische Anämie im Jahre 1949 ihre Hypothese von der immunpathogenetisch bedingten chronischen ITP mit der Beobachtung, daß man bei einem erworbenen hämolytischen Ikterus mit positivem Coombstest der Erythrozyten nicht selten eine Thrombopenie findet und daß andererseits auch bei einem Teil ihrer untersuchten ITP-Fälle ein positiver Coombstest vorlag.

1951 gelang ihnen der Nachweis eines Thrombozyten-Agglutinins im Serum von ITP-Kranken, wobei sie auf die Schwierigkeiten hinwiesen, unspezifische Reaktionen zu vermeiden (8).

HARRINGTON und Mitarbeiter (12) wiesen 1951 im Plasma eines ITP-Kranken, welches nach Transfundierung auf gesunde Personen bei diesen eine Thrombopenie auslöste, einen thrombozytären Faktor nach, der zur Globulinfraktion des Plasmas gehörte.

DAUSSET und Mitarbeiter (3) beschrieben 1952 ein Thrombozyten-Agglutinin bei einem an chronischer ITP gestorbenen Patienten, das eine besonders starke antigene Wirkung zeigte und nicht nur eine Agglutination der Thrombozyten, sondern auch ihre Lyse bewirkte.

Im gleichen Jahr wies MIESCHER (24) eine Aktivität des ITP-Serums auch gegen Kaninchen- und Meerschweinchen-Thrombozyten nach, womit der heterophile Charakter dieses Antikörpers bewiesen und zugleich eine Möglichkeit zu genauerer Untersuchung dieses Antikörpers eröffnet wurde. Schließlich gelang ihm 1954 unter vier Seren von ITP-Kranken, die nach Transfusion auf Tiere bei denselben zu einer Thrombopenie führten, in zwei Fällen eine positive Agglutinationsreaktion mit normalen Thrombozyten.

STEFANINI und Mitarbeiter (35) konnten 1952 die Thrombozyten-Agglutination durch ITP-Seren bestätigen, wobei sie mit Sicherheit einen Koagulationsfaktor als Fehlerquelle, der frühere Untersuchungen auch anderer Autoren sehr oft beeinträchtigte, ausschließen konnten.

Der Nachweis des heterophilen Charakters der Antikörper bei chronischer ITP wurde von STEFANINI und ADELSON (36) in 11 von 23 untersuchten Seren erbracht.

Die wiederholt gefundenen thrombozytären Antikörper und die verkürzte Lebensdauer transfundierter Thrombozyten bei der chronischen ITP waren schließlich maßgebend für die Annahme, daß dieser Krankheit ein immunologischer Prozeß zugrundeliege, der durch eine Reaktion der Thrombozyten mit einem im RES gebildeten Auto-Antikörper bisher unbekannter Ätiologie gekennzeichnet sei (24). Die weiteren Untersuchungen führten dann zu der oben beschriebenen Charakterisierung dieses Auto-Antikörpers.

Zu den übrigen Formen autoimmunologisch bedingter Krankheiten, bei denen sich u.a. Antigen-Antikörper-Reaktionen an Thrombozyten abspielen, gehört eine Form der Neugeborenen-Thrombopenie, die durch Übertragung eines thrombozytären Auto-Antikörpers einer an chronischer ITP leidenden Mutter ausgelöst wurde (24).

VERSTRAETE und VANDENBROUCKE (47) gelang der Nachweis des verantwortlichen mütterlichen Agglutinins im kindlichen Blut.

Es zählen hierzu ferner diejenigen Krankheiten, in deren Verlauf es u.a. zur Auto-Antikörper-Bildung gegen Thrombozyten kommt, wie der viszerale Erythomatodes, die erworbene hämolytische Anämie und die immunologisch bedingte Panzytopenie.

Auch bei anderen Krankheiten wurden Agglutinationsreaktionen gefunden, die man in der Mehrzahl als unspezifische Thrombozytenreaktionen ansah. Das weist besonders deutlich auf Fehlerquellen hin, die beim Nachweis der Auto-Antikörper gegen Thrombozyten bestehen und immer wieder von den verschiedenen Autoren hervorgehoben wurden (4, 8, 24, 32).

insbesondere schreibt MIESCHER (24), die neuere Forschung sei durch die Schwierigkeit des Antikörpernachweises geradezu charakterisiert. Einerseits suche man nach möglichst empfindlichen Methoden, andererseits steige mit wachsender Empfindlichkeit der Prozentsatz unspezifisch positiver Resultate, so daß sich die Frage aufdränge, was schließlich serologisch nachgewiesen würde.

Diesem Dilemma sind fast alle Methoden zum Nachweis thrombozytärer Antikörper unterworfen, woraus die immer neuen oder abgewandelten Methoden verständlich werden, mit denen man versucht hat, diese Schwierigkeiten zu überwinden.

Unter diesen Methoden hat jedoch der von STEFFEN (38, 39) 1954 angegebene Antiglobulin-Konsumptionstest - als direktes und indirektes Verfahren - für den Nachweis von Auto-Antikörpern eine besondere Bedeutung erlangt.

Mit diesem Verfahren gelang es STEFFEN zunächst, Gewebs-Auto-Antikörper (38) und danach in rascher Folge auch gegen Blutzellen gerichtete Auto-Antikörper nachzuweisen (39). Erstmalig hat er mit der nach ihm benannten Methode insbesondere einen Nachweis von inkompletten Leukozyten- und Thrombozyten-Auto-Antikörpern erbracht (40 bis 42).

DAUSSET und Mitarbeiter (5, 6) fanden 1958 mit dem Antiglobulin-Konsumtions-test ebenfalls leukozytäre und thrombozytäre Auto-Antikörper.

MIESCHER (24) berichtet in einer Arbeit über Auto-Antikörper beim viszeralem Erythematodes u. a. über das gleichzeitige Bestehen von Auto-Antikörpern gegen Leukozyten und Thrombozyten, deren Aufdeckung auch ihm mit dem STEFFEN-test gelang.

MOULINIER (25) konnte ebenfalls mit einer leicht modifizierten Form dieses Testes gegen Leukozyten und Thrombozyten gerichtete Auto-Antikörper nachweisen.

Neben weiteren Untersuchungen über das Vorliegen von Auto-Antikörpern insbesondere bei an idiopathischer Thrombopenie Erkrankten konnte STEFFEN 1958 bereits eine eingehende Charakterisierung dieses immer wieder nachgewiesenen Serumfaktors vorlegen. Dieser wird aufgrund seines serologischen Verhaltens wie inkomplette Antikörper je nach seiner Zellaktivität als Iso- oder Auto-Antikörper bezeichnet (17).

II. Untersuchungen zur Methodik

Die serologische Forschung des letzten Jahrzehnts hat zahlreiche Methoden zum Nachweis von Antikörpern entwickelt. Eingang in die Routineuntersuchung haben dabei insbesondere solche Verfahren gefunden, die sich durch eine besonders hohe Spezifität und Empfindlichkeit auszeichnen. So sind wir heute in der Lage, Krankheiten zu diagnostizieren und ihre Ätiologie sicher zu stellen, deren Genese bis vor kurzem noch unbekannt war. Derart spezifische und hochempfindliche Untersuchungsreaktionen besitzen allerdings den Nachteil, daß die Zahl der unspezifisch-positiven Resultate zunimmt, wodurch eine serologische Abgrenzung der verschiedenen Krankheitszustände schwierig werden kann (24). Das gilt insbesondere für den Nachweis von Auto-Antikörpern gegen körpereigenes Gewebe; es ist deshalb erforderlich, bei den verschiedenen Un-

tersuchungsverfahren bestimmte Relationen einzuhalten. Die Bindung von Antigenen und Antikörpern ist u. a. abhängig von den Mengenverhältnissen dieser beiden Reaktionspartner, von dem Medium, in welchem dieses Gemisch suspendiert ist, von der Einwirkungszeit, innerhalb derer die Antigen-Antikörperbindung zustandekommen soll, und nicht zuletzt von der Temperatur, bei der die Reaktion abläuft (44).

Die Faktoren spielen natürlich dann eine besonders große Rolle, wenn es sich um Reaktionsabläufe handelt, welche mit dem bloßen Auge nicht sichtbar gemacht werden können, die also nur durch Vermittlung einer zweiten Reaktion ablesbar werden. Im besonderen Maße gilt dies für den Nachweis thrombozytärer Antikörper, zu dem sich nach MIESCHER (24) vor allem der sog. Antiglobulin-Konsumptionstest am besten eignet. Er wird auch als Anti-Humanglobulin-Konsumptionstest, Anti-Humanglobulin-Ablenkungsmethode oder Steffentest bezeichnet.

Diese 1954 von STEFFEN (38, 39) angegebene Methode beruht im Prinzip darauf, daß bei Zugabe eines Antigens (z. B. Thrombozyten) zu einem entsprechenden Patientenserum die in demselben vorhandenen inkompletten, spezifischen - z. B. thrombozytären - Antikörper an das Antigen gebunden werden. Nach Entfernung des restlichen Serumeiweißes können diese Antikörper mit Anti-Humanglobulin reagieren. Durch diese Bindung kommt ein Titelverlust des Anti-Humanglobulinserums zustande, den man "Ablenkung" oder "Konsumption" nennt. Er ermöglicht als meßbare Komponente, das Vorhandensein inkompletter - beispielsweise thrombozytärer - Antikörper in einem Patientenserum nachzuweisen. Im einzelnen wird dabei einem Patientenserum eine Thrombozytensuspension zugesetzt und das Gemisch bei 37⁰ C inkubiert. Anschließend werden die Thrombozyten zentrifugiert und mehrmals ausgewaschen, um die nicht gebundenen Serumproteine zu entfernen. Die so vorbehandelten Thrombozyten werden dann mit einem Anti-Humanglobulinserum versetzt, dessen Titerhöhe vorher bestimmt wurde. Nach bestimmter Einwirkungszeit bei Zimmertemperatur wird der Titer des Anti-Humanglobulinserums gegen mit Anti-D beladene D-positive O-Blutkörperchen bestimmt. Es werden dazu die gleichen

Blutkörperchen benutzt, mit denen vor Ansetzen des Versuches der Ausgangstiter des Anti-Humanglobulinserums bestimmt worden war.

Die Schwierigkeiten und die Fehlermöglichkeiten bei derartigen Untersuchungsverfahren, bei denen der Reaktionsausfall erst mit Hilfe einer zweiten, auf anderen Voraussetzungen beruhenden Reaktion abgelesen werden kann, sind besonders groß, da schon geringe methodische Fehler im ersten System möglicherweise im zweiten System verdoppelt werden können, oder umgekehrt. Die bereits oben angeführten Prämissen für eine einwandfreie Durchführung serologischer Methoden sind daher beim Thrombozyten-Antikörpernachweis von ganz besonderer Bedeutung. Das gilt an erster Stelle für den Reaktionsablauf in dem Gemisch von Patientenserum und Thrombozyten, wobei nicht nur die Mengenverhältnisse, sondern auch die antigenetische Qualität der verwendeten Antigene beachtet werden müssen.

Zum zweiten ist bei dieser speziellen Untersuchungsart die Trennung des Patientenserums von den zugesetzten Thrombozyten nach der Inkubation bei Körpertemperatur zu nennen.

Zweifellos spielt hier die Umdrehungszahl der Zentrifuge eine Rolle, aber daneben ist sicherlich auch die Zahl der Waschvorgänge und die Menge der zugegebenen Waschlösung von Bedeutung.

An dritter Stelle schließlich bietet die sog. Ablenkung des Coombsserums Möglichkeiten zu Fehlern, da ebenfalls wieder die Mengenverhältnisse zwischen Coombsserum und ausgewaschenen und evtl. mit Antikörpern beladenen Thrombozyten, die Zeit der Ablenkung und die Temperatur bei diesem Ablenkungsvorgang eine Rolle spielen können. STEFFEN (39) verwendet bei dem von ihm angegebenen Test lyophilisierte Thrombozyten, wobei er den Inhalt einer Ampulle (Fa. Sanabo, Wien) in 1 ml Aqua dest. aufschwemmt und mit 4 ml Patientenserum versetzt. Das Gemisch wird anschließend gut durchgeschüttelt und für eine halbe Stunde bei 37° C inkubiert. Nach dieser Zeit werden die Thrombozyten abzentrifugiert, und die überstehende Flüssigkeit wird verworfen. Im Anschluß daran wird das Sediment mit eisgekühlter eiweißfreier physiologischer Kochsalzlösung mindestens sechsmal bis zur völligen Eiweißfreiheit gewaschen.

Nach dem letzten Zentrifugiervorgang werden die Thrombozyten dann in 0,5 ml eiweißfreier physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Nachdem dieser Versuch abgeschlossen ist und damit einmal die mögliche Reaktion zwischen Antikörpern des Patientenserums und Thrombozyten zustandegekommen ist und zum anderen die antikörperbeladenen Thrombozyten serumeiweißfrei isoliert sind, beginnt der zweite Teil dieses Tests, bei dem sich die entsprechenden Antikörper des Anti-Humanglobulinserums an die den Thrombozyten anhaftenden Antikörper anlagern sollen, die sog. Ablenkung. Dazu werden für den Hauptversuch 10 eiweißfreie Reagenzröhrchen in eine Reihe gestellt. Dahinter kommen noch zwei gleichartige Reihen, eine für einen Kontrollansatz mit gleichbehandeltem Normalserum und die zweite für einen Ansatz mit eiweißfreier NaCl-Lösung. In jedes Röhrchen dieser drei Reihen werden nun je zwei Tropfen einer ansteigenden Anti-Humanglobulinserumverdünnung einpipettiert, und zwar in einer derartigen Ausgangsverdünnung, daß in den letzten Röhrchen der Reihe der bekannte Endtiter gegen die mit Anti-D beladenen Rh-positiven O-Erythrozyten erreicht wird. Zu diesen Verdünnungen des Coombsserums kommen nun in der ersten Reihe je zwei Tropfen aus dem Hauptversuch, also Suspension der vorbehandelten Thrombozyten in 0,5 ml eiweißfreier Kochsalzlösung. Den Röhrchen der zweiten Reihe werden je zwei Tropfen einer Kontrollaufschwemmung zugegeben, die durch einen Ansatz von Thrombozyten mit Normalserum in gleicher Weise gewonnen wurde, wie das für den Hauptversuch beschrieben wurde. Der dritten Reihe werden je 2 Tropfen einer in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Thrombozytensuspension zugesetzt. Nach Beendigung dieses Ansatzes werden alle Röhrchen leicht geschüttelt und danach zentrifugiert. Die Zeitspanne zwischen Ansatz und Beendigung der Zentrifugation und des Wiedereinsortierens der Röhrchen in einen Ständer soll nach STEFFEN nicht mehr und nicht weniger als drei Minuten betragen. Aus jedem Röhrchen wird dann rasch ein Tropfen der überstehenden Coombsserumverdünnung, der Reihe und der Verdünnung entsprechend, auf eine vorbereitete eiweißfreie Glasplatte aufgetropft. Diesen Coombsserumverdünnungen wird dann je ein Tropfen der beladenen D-positiven O-Erythrozyten zugesetzt; es wird kurz verrührt und nach genau fünf Minuten die Reaktion registriert. Der Steffen-test wird in der Weise abgelesen, daß zunächst bei der NaCl-Reihe kontrolliert

und die Verdünnungsstufe der letzten noch mit dem bloßen Auge erkennbaren Agglutination bestimmt wird. In gleicher Weise werden beide Serumreihen überprüft und untereinander sowie mit dem Ergebnis der NaCl-Reihe verglichen, wobei die Stärke der letzten Agglutination allerdings bereits in Relation zu den anderen Endstufen als plus (+) oder plus-minus ($\pm$) bezeichnet wird. Beim Vergleich der drei Versuchsreihen untereinander gilt eine Differenz in der Agglutinationsstärke von + zu $\pm$ als eine halbe und von + zu - als eine ganze Stufe. Beispiele für Ablesung und Bewertung des Steffentestes sind in Tabelle 1 dargestellt.

Verdünnung des Coombsserums	Agglutinationsbild verschiedener Reihen				
	Kontrolle	Pat. Serum A	Pat. Serum B	Pat. Serum C	Pat. Serum D
1 : 64	+	+	+	+	+
1 : 128	+	+	+	$\pm$	-
1 : 256	+	$\pm$	-	-	-
1 : 512	-	-	-	-	-
Titerdifferenz					
gegenüber Kontrollreihe		1/2	1	1 1/2	2

Tabelle 1:

Beispiele für verschiedene Titerstufen beim Steffentest, d.h. Titerdifferenz gegenüber einer Kontrollreihe.

STEFFEN betont, daß es von Bedeutung ist, alle drei Reihen in einem Versuchsgang auf der Platte gleichzeitig zu untersuchen.

Wie er ausführt (39), kann eine Ablenkung der Aktivität des Coombsserums durch die Versuchszellaufschwemmung gegenüber einer unveränderten Aktivität in den Kontrollzellansätzen bei eiweißfreiem Reaktionsmilieu nur auf die Beladung der Thrombozyten mit einer Substanz von Humanglobulineigenschaften zurückgeführt werden. Diese Substanz von Humanglobulineigenschaft, in

diesem Fall ein Thrombozyten-Antikörper, vermindert die vorher bekannte Anti-Humanglobulinaktivität des Coombsserums. Entgegen dieser ursprünglichen Auffassung, daß die Globulinkomponente eines Normalserums gar keine Ablenkung verursacht, nimmt man neueren Erkenntnissen zufolge an, daß Gewebshomogenate oder isolierte Blutzellen die Eigenschaft besitzen, aus einem Serum eine bestimmte Menge an Gammaglobulin unspezifisch zu adsorbieren. Durch wiederholte Waschungen mit der auf $+ 4^{\circ}$ C abgekühlten NaCl-Lösung kann zwar der größte Teil davon wieder entfernt werden, ein kleiner Rest ist jedoch selbst durch mehr als zehnfaches Auswaschen nicht eliminierbar. Die Menge des Antigens steht dabei in direkter Relation zur Menge des nicht auswaschbaren Gamma-Globulinanteils. Um reproduzierbare Resultate zu erhalten, muß deshalb bei jeder neu hergestellten Antigenpräparation mit stets gleichen Mengen desselben Adsorptionsvermögens gearbeitet werden. Diese Vorbedingungen wurden bei unseren Untersuchungen exakt eingehalten. Deshalb bewegte sich der Titerabfall durch diesen nicht auswaschbaren Gammaglobulinanteil nur im Bereich von $1/2$ bis $1 \frac{1}{2}$ Titerstufen gegenüber dem Ausgangstiter unseres Coombsserums. Dieser bei jedem Ansatz mit Serum gesunder Menschen zu beobachtende Antiglobulinverbrauch wird als "Basiskonsumption" bezeichnet (43, 46).

So kann man bei der Untersuchung gesunder Probanden erst dann von dem Vorliegen thrombozytärer Auto-Antikörper sprechen, wenn im Steffentest die Normalwerte dieser Basiskonsumption überschritten werden, wenn also die Titerdifferenz zwischen Serum und NaCl-Reihe mehr als eineinhalb bis zwei Stufen beträgt.

Da wir den Antiglobulin-Konsumptionstest in der vorliegenden Arbeit am Beispiel der Thrombozyten-Auto-Antikörper durch Kontrolluntersuchungen insbesondere an gesunden Probanden einer genauen Überprüfung unterziehen wollten, haben wir die von STEFFEN angegebene Methodik (39) in einigen Punkten abgeändert. Wir wollten einerseits die bekannten Ausgangswerte sowohl in Bezug auf Mengenverhältnisse als auch auf die Zeit variieren und andererseits bei der größeren Zahl der gleichzeitig durchzuführenden Untersuchungen möglicher-

weise eine methodische Vereinfachung erreichen. So haben wir frische Thrombozyten verwendet, deren Anzahl wir mit der direkten Zählmethode mikroskopisch bestimmten. Auf diese Weise konnten wir immer gleiche Ausgangswerte verwenden, bzw. dieselben nach oben und unten verändern. Für die Anwendung frischer Thrombozyten sprach auch die Überlegung, daß solche möglicherweise günstigere antigenetische Qualität gegenüber gefriergetrockneten aufwiesen und damit die Methode empfindlicher sein könnte.

Die Thrombozyten haben wir so isoliert, daß eine bestimmte Blutmenge in silikonisierten Gefäßen aufgefangen wurde, wobei die Gerinnung durch Zusatz von Titriplex III in einem Verhältnis von 1:10 verhindert wurde. Wir haben bei unseren Versuchen ausschließlich menschliche Thrombozyten verwendet. Das Titriplex-Blutgemisch wurde zunächst für 1 - 2 Stunden bei 4° C belassen, dann erst folgte die Trennung der Thrombozyten von Erythrozyten und Leukozyten durch mehrmaliges Zentrifugieren bei 4° C. Dazu sind wir so vorgegangen, daß zunächst das Vollblut 15 Min. bei 1000 U/min zentrifugiert wurde und anschließend auch das abgehobene Plasma noch zweimal für je 10 Min. bei ebenfalls 1000 U/min. Nach diesem Arbeitsgang sind rote und weiße Blutkörperchen praktisch vollständig sedimentiert, während die Thrombozyten zu etwa 80 % in Suspension bleiben. Um diese nun von dem Suspensionsmedium abzutrennen, muß die Mischung zweimal bei 2000 U/min für 20 Min. ebenfalls bei 4° C zentrifugiert werden. Die danach sedimentierten Thrombozyten werden in 2 ml Titriplex III aufgeschwemmt. Aus dieser "Stammsuspension", die für längere Zeit in der Tiefkühltruhe haltbar ist, haben wir dann je nach Bedarf unseren Thrombozyten-Gebrauchsansatz nach mehrmaligem Auswaschen der Titriplexlösung mit physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. Dabei wurden die Thrombozyten so verdünnt, daß in 0,5 ml der Suspension, die wir zu 2 ml Serum zugesetzt haben, etwa 5×10^8 Thrombozyten enthalten waren. Die Inkubation des Thrombozyten-Serumansatzes wurde - wie von STEFFEN beschrieben - durchgeführt. Beim Auswaschen des zugesetzten Serums haben wir in den ersten Versuchen die Eiweißfreiheit mit Hilfe der sehr empfindlichen Sulfosalicylsäureprobe kontrolliert. Da bereits nach dem dritten Auswaschen mit eisgekühlter physiologischer NaCl-Lösung diese Probe negativ ausfiel, haben wir zur Vereinfachung zunächst nur dreimal ausgewaschen. Auch

bei der Ablenkung haben wir anfangs versucht, die Methode dadurch zu verkürzen, daß wir das Anti-Humanglobulinserum in seiner Ausgangsverdünnung mit den Thrombozyten versetzt haben und nicht wie STEFFEN das bereits in Verdünnungsstufen angesetzte Coombsserum jeweils mit einer bestimmten Menge der Thrombozyten-Suspension. Eine Ablenkungszeit von 3 Min., wie sie von STEFFEN angegeben wird, konnten wir aufgrund der schwierigen Methodik im Auftropfen von Coombsserumverdünnungen, Zugaben der Blutkörperchen usw. nicht erreichen. Unsere Ablenkungszeit betrug deshalb 10 Min. bei Zimmertemperatur. Im übrigen wurde unser Versuchsansatz genau nach den Vorschriften von STEFFEN durchgeführt (39).

Da unsere ersten, nach diesem Verfahren angesetzten Versuchsreihen bei gesunden Probanden in nicht zu übersehendem Prozentsatz hohe Titerverluste ergaben, und da Versuchsergebnisse bei verschiedenen Ansätzen nicht einwandfrei reproduzierbar waren, haben wir die Methodik mehr der STEFFEN'schen Methode angenähert. Der erste Ansatz, Thrombozyten und zu untersuchendes Serum, wurde, wie bei der ersten Methodik beschrieben, belassen. Nach einer 30 Min. dauernden Inkubation bei 37⁰ C haben wir in jeder Versuchsserie zehnmal mit eisgekühlter NaCl-Lösung bei einer Zentrifugen-Umdrehungszahl von 3000/min. ausgewaschen. Im weiteren haben wir uns an die von STEFFEN angegebenen Vorschriften gehalten mit einer Ausnahme, daß die Ablenkungszeit aus den erwähnten methodischen Gründen nicht wie bei STEFFEN 3 Min., sondern bei uns 10 Min. bei Zimmertemperatur betrug.

III. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

Die in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellten Untersuchungsergebnisse basieren auf der Überprüfung von 307 gesunden Versuchspersonen, davon 260 Männer und 47 Frauen. Wie oben bereits dargelegt, war es unser Anliegen, den Antikörpergehalt im Serum eines gesunden Kollektivs in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter, Blutgruppe und Thrombozytenzahl zu bestimmen. Darüberhinaus wollten wir die Beziehung der einzelnen Gesichtspunkte zueinander durch

entsprechende Gegenüberstellung der Untersuchungsergebnisse demonstrieren.

In der Tabelle 2 ist das Ergebnis der mikroskopischen Thrombozytenzählung und die Aufteilung der Probanden nach den ermittelten Thrombozytenzahlen pro Kubikmillimeter (mm^3) dargestellt. Wir haben dazu die Thrombozytenzahlen in Abständen von je 50.000 verschiedenen Gruppen zugeteilt, so daß im Blut der Gruppe I 100.000 bis 150.000, der Gruppe II über 150.000 bis 200.000, der Gruppe III über 200.000 bis 250.000, der Gruppe IV über 250.000 bis 300.000, der Gruppe V über 300.000 bis 350.000 und der Gruppe VI mehr als 350.000 Thrombozyten/ mm^3 enthalten waren.

Dabei entfielen auf die verschiedenen Gruppen folgende Zahlen: Gruppe I 6 Probanden, gleich 1,95 %; Gruppe II 26 Probanden, gleich 8,45 %; Gruppe III 146 Probanden, gleich 47,6 %; Gruppe IV 101 Probanden, gleich 32,9 %; Gruppe V 24 Probanden, gleich 7,8 % und Gruppe VI 4 Probanden, gleich 1,3 %.

Gruppe	Thrombozytenzahlen in 1000 mm^3						Insgesamt
	100 ü. 150 bis 150	150 ü. 200 bis 200	200 ü. 250 bis 250	250 ü. 300 bis 300	300 ü. 350 bis 350		
	I	II	III	IV	V	VI	
Probanden- zahl	6	26	146	101	24	4	307
%	1,95	8,45	47,6	32,9	7,8	1,3	

Tabelle 2:

Aufteilung der Probanden nach Thrombozytenzahlen/ mm^3 .

Die Geschlechtsverteilung der Thrombozytenzahlen ist der Tabelle 3 zu entnehmen; sie brachte folgendes Ergebnis:

123 der männlichen Probanden hatten zwischen 200.000 und 250.000 Thrombozyten/ mm^3 , 82 zwischen 250.000 und 300.000 Thrombozyten/ mm^3 , was prozentualen Anteilen von 47,35 % bzw. 31,50 % entspricht. 25 Personen, das sind

9,3 %, hatten Thrombozytenzahlen zwischen 150.000 und 200.000, 20, das sind 7,7 %, zwischen 300.000 und 350.000. Nur 6 der männlichen Probanden, das sind 2,3 %, hatten Thrombozyten zwischen 100.000 und 150.000 und nur 4, das sind 1,54 %, mehr als 350.000 pro Kubikmillimeter (mm^3). Die Verteilung der Thrombozytenanteile im Blut der weiblichen Versuchspersonen war ähnlich. 23, das sind 49,0 %, hatten Thrombozytenzahlen zwischen 200.000 und 250.000/ mm^3 , 19, das sind 40,4 %, hatten solche zwischen 250.000 und 300.000/ mm^3 ; bei einer Person, das sind 2,10 %, fanden sich Thrombozytenzahlen zwischen 150.000 und 200.000/ mm^3 ; vier der untersuchten Frauen hatten 300.000 bis 350.000 Thrombozyten/ mm^3 , das sind 8,5 %. Den Gruppen mit den niedrigsten (I) und den höchsten (VI) Thrombozytenzahlen konnten keine Versuchspersonen zugeordnet werden.

Gruppe	Thrombozytenzahlen in 1000/ mm^3						Insgesamt
	100 ü. bis 150	150 ü. bis 200	200 ü. bis 250	250 ü. bis 300	300 ü. bis 350	über 350	
	I	II	III	IV	V	VI	
Männer	6	25	123	82	20	4	260
%	2,3	9,61	47,35	31,5	7,7	1,54	
Frauen	0	1	23	19	4	0	47
%	0	2,1	49,0	40,4	8,5	0	

Tabelle 3:

Relation zwischen Thrombozytenzahlen/ mm^3 und Geschlecht.

Bei der Verteilung der gefundenen Thrombozytenzahlen auf die Altersgruppen unserer Probanden (Tabelle 4) wurde insbesondere wegen der geringen Zahl der untersuchten Frauen auf eine weitere Differenzierung nach dem Geschlecht verzichtet. Wir haben dazu verschiedene Altersgruppen gebildet, und zwar solche zwischen 20 und 30, zwischen 31 und 40, zwischen 41 und 50 sowie

zwischen 51 und 65 Jahren. Danach gehören 166 Personen, das sind 54,2 %, der ersten Altersgruppe, 81, das sind 26,4 %, der zweiten, 35, das sind 11,4 %, der dritten und 25, das sind 8,2 %, der vierten der genannten Gruppen an.

	Altersgruppen				Insgesamt
	20-30	31-40	41-50	51-65	
Probandenzahl	166	81	35	25	307
%	54,0	26,4	11,4	8,2	

Tabelle 4:

Altersverteilung der Probanden.

Eine Gegenüberstellung von Thrombozytenzahlen und den entsprechenden Altersgruppen (Tabelle 5) ergibt, daß in jeder Altersgruppe die Personen mit Thrombozytenzahlen zwischen 200.000 und 300.000/mm³ am häufigsten vertreten sind. Im einzelnen sind das in der ersten Altersgruppe 48,8 bzw. 30,8 % mit 81 und 51 Personen, in der zweiten Altersgruppe 39,6 bzw. 35,8 % mit 32 und 29 Personen, in der dritten Altersgruppe 57,0 bzw. 34,4 % mit 20 und 12 Personen und in der vierten Altersgruppe schließlich 52,0 bzw. 36,0 % mit 13 und 9 Personen. Thrombozytenzahlen jeweils darunter oder darüber fanden wir bei den einzelnen Altersgruppen nur in geringeren Prozentsätzen. So bei der ersten Altersgruppe 9,6 % (16 Personen) mit Thrombozytenzahlen zwischen 150.000 und 200.000/mm³ bzw. 300.000 bis 350.000/mm³, in der zweiten Altersgruppe 14,8 %, das sind 12 Personen, mit Werten unter 200.000 Thrombozyten/mm³ und 9,8 %, das sind 8 Personen, mit über 300.000/mm³. In der dritten Altersgruppe waren es 8,6 %, das sind 3 Personen, mit Thrombozyten im Bereich zwischen 150.000 und 200.000/mm³. In der vierten Altersgruppe hatten 4,0 %, das ist eine Person, zwischen 150.000 und 200.000/mm³ und 8 %, das sind zwei Personen, zwischen 300.000 und 350.000 Thrombozyten/mm³.

Alters- gruppen	Thrombozytenzahlen in 1000/mm ³						Insgesamt
	100 ü.	150 ü.	200 ü.	250 ü.	300 ü.	über	
	bis	bis	bis	bis	bis		
	150	200	250	300	350	350	
	I	II	III	IV	V	VI	
20-30	0	16	81	51	16	2	166
%	0	9,6	48,8	30,8	9,6	1,2	
31-40	6	6	32	29	6	2	81
%	7,4	7,4	39,6	35,8	7,4	2,4	
41-50	0	3	20	12	0	0	35
%	0	8,6	57,0	34,4	0	0	
51-65	0	1	15	9	2	0	25
%	0	4,0	52,0	36,0	8,0	0	

Tabelle 5:

Relation zwischen Thrombozytenzahl und Alter.

Auf die einzelnen Blutgruppen verteilen sich unsere Probanden entsprechend Tabelle 6 wie folgt:

41,4 % des Kollektivs entfallen auf die Blutgruppe 0, annähernd derselbe Prozentsatz (40,7) auf die Blutgruppe A, 9,45 % auf die Blutgruppe B und 8,45 % auf die Blutgruppe AB.

	Blutgruppen:				Insgesamt
	0	A	B	AB	
Probandenzahl	127	125	29	26	307
%	41,4	40,7	9,45	8,45	

Tabelle 6:

Aufteilung der Probanden nach Blutgruppen.

Wie die folgende Tabelle 7 zeigt, ist die Relation zwischen den verschiedenen Blutgruppen und Thrombozytenzahlen so, daß bei den einzelnen Blutgruppen der größte Anteil auf die Gruppen III und IV mit den Thrombozytenzahlen zwischen 200.000 und 300.000/mm³ entfällt. Bei der Blutgruppe 0 sind das 41,0 bzw. 37,8 % mit 52 bzw. 48 Personen, bei der Blutgruppe A 48,0 bzw. 30,4 % mit 60 bzw. 38 Personen, bei der Blutgruppe B 62,0 bzw. 27,6 % mit 18 und 8 Personen und bei der Blutgruppe AB 61,6 bzw. 26,9 % mit 16 und 7 Personen. Höhere und niedrigere Werte fanden sich bei den einzelnen Blutgruppen ähnlich wie bei der Altersverteilung nur in geringem Prozentsatz.

Blutgruppen	Thrombozytenzahlen in 1000/mm ³						Insgesamt
	100 ü.	150 ü.	200 ü.	250 ü.	300 ü.	über	
	bis 150	bis 200	bis 250	bis 300	bis 350	350	
	I	II	III	IV	V	VI	
0	3	11	52	48	11	2	127
%	2,35	8,64	41,0	37,8	8,64	1,57	
A	3	10	60	38	13	1	125
%	2,4	8,0	48,0	30,4	10,4	0,8	
B	0	2	18	8	0	1	29
%	0	6,9	62,0	27,6	0	3,5	
AB	0	3	16	7	0	0	26
%	0	11,5	61,6	26,9	0	0	

Tabelle 7:

Relation zwischen Thrombozytenzahlen und Blutgruppen.

Im Zusammenhang mit den von uns durchgeführten Untersuchungen interessiert natürlich besonders die Aufschlüsselung der im Antiglobulin-Konsumptions-test nach STEFFEN gefundenen Hemmstufen nach den gleichen Gesichtspunkten, wie das für Thrombozyten bereits beschrieben wurde.

Zuvor ist jedoch in Tabelle 8 die zahlenmäßige Verteilung der Hemmstufen auf die untersuchten Personen dargestellt. Es zeigte sich, daß bei 154 Personen, das sind 50,3 %, im Vergleich zur mitgeführten NaCl-Kontrolle ein Verlust des Coombstitors um eine halbe Stufe nachzuweisen war. Bei 125 Probanden, das sind 40,7 %, war der Titer des Coombsserums nach dem Versuchsansatz um eine Stufe, bei 21 Personen, das sind 6,8 %, war er um eineinhalb Stufen niedriger als der Vergleichswert in der NaCl-Lösung. Nur bei 7 Personen, das sind 2,2 %, war kein Titerabfall nachweisbar.

	Hemmstufen:				Insgesamt
	0	1/2	1	1 1/2	
Probandenzahl	7	154	125	21	307
%	2,2	50,3	40,7	6,8	

Tabelle 8:

Verteilung der im Steffentest nachgewiesenen Hemmstufen auf das Kollektiv.

Im folgenden werden die Tabellen 9 - 12 durch die Abbildungen I bis IV ergänzt, um die tabellarische Aussage übersichtlicher zu gestalten:

Den prozentual aufgeschlüsselten Rubriken der Tabellen entsprechen in der Graphik jeweils hundert Prozent verkörpernde Säulen mit den in den Tabellen fixierten prozentualen Unterteilungen.

Die in allen Abbildungen gleichbleibende Einzelsäule stellt die Aufteilung des Kollektivs nach den prozentualen Anteilen der verschiedenen Hemmstufen dar. Der Säulenblock mit unterschiedlicher Säulenzahl gibt die prozentuale Verteilung der Hemmstufen in dem nach bestimmten Gesichtspunkten (Alter, Blutgruppe etc.) gegliederten Kollektiv wieder. Die Breitendifferenz der einzelnen Säulen des Blocks entspricht der unterschiedlichen Probandenzahl, die jene jeweils repräsentieren. Sie verdeutlicht den Unterschied in der Größe der Einzelkollektive, die in den Säulen untereinander und mit dem Gesamtkollektiv verglichen werden.

Eine Aufgliederung der Hemmstufen nach dem Geschlecht unserer Probanden ist in der Tabelle 9 und Abbildung I dargestellt. Dieser Zusammenstellung ist zu entnehmen, daß bei 127 Männern, das sind 48,8 %, und 27 Frauen, das sind 57,5 %, eine Ablenkung des Coombsserums um eine halbe Stufe nachzuweisen war. Bei 108 Männern, das sind 41,5 %, und 17 Frauen, das sind 36,2 %, erniedrigte sich der Titer des Coombsserums nach entsprechendem Versuchsansatz um eine, bei 19 Männern, das sind 7,3 %, und 2 Frauen, das sind 4,2 %, erniedrigte er sich um eineinhalb Titerstufen. Bei 6 Männern, das sind 2,3 %, und einer Frau, das sind 2,1 %, war keine Titererniedrigung festzustellen.

	Hemmstufen:				Insgesamt
	0	1/2	1	1 1/2	
Männer	6	127	108	19	260
%	2,3	48,8	41,6	7,3	
Frauen	1	27	17	2	47
%	2,1	57,5	36,2	4,2	

Tabelle 9:

Verteilung der Hemmstufen im Steffentest nach dem Geschlecht.

Eine entsprechende Verteilung der von uns nachgewiesenen Hemmstufen auf die verschiedenen Altersgruppen unserer Probanden ohne Berücksichtigung des Geschlechts ist in Tabelle 10 und Abbildung II dargestellt. Dieser ist zu entnehmen, daß 87 Personen der ersten Altersgruppe, das sind 52,4 %, 35 Personen der zweiten Altersgruppe, das sind 43,2 %, 21 Personen der dritten Altersgruppe, das sind 60,0 %, und 11 Personen der vierten Altersgruppe, das sind 44,0 %, eine Ablenkung des Coombsserums um eine halbe Stufe zeigten. Eine Erniedrigung des Titers unseres Coombsserums um eine Stufe fanden wir bei 63 Personen der ersten Altersgruppe, das sind 38,0 %, bei 36 Personen der zweiten Altersgruppe, das sind 44,5 %, bei 13 Personen

der dritten Altersgruppe, das sind 37,14 %, und bei 13 Personen der vierten Altersgruppe, das sind 52 %. Um eineinhalb Stufen schließlich erniedrigte sich nach dem Versuchsansatz mit dem Probandenserum der Titer des Anti-Humanglobulinserums bei 12 Personen, das sind 7,2 % der ersten, bei 7 Personen, das sind 8,6 % der zweiten, bei 1 Person, das sind 2,6 % der dritten, und ebenfalls bei 1 Person, das sind 4,0 % der vierten Altersgruppe. Die sieben Fälle ohne Titerabfall verteilten sich auf die beiden ersten Altersgruppen mit 4 Personen, gleich 2,4 %, auf die Gruppe I, und mit 3 Personen, gleich 3,7 % auf die Gruppe II.

Altersgruppen	Hemmstufen:				Insgesamt
	0	1/2	1	1 1/2	
20 - 30	4	87	63	12	166
%	2,4	52,4	38,0	7,2	
31-40	3	35	36	7	81
%	3,7	43,2	44,5	8,6	
41-50	0	21	13	1	35
%	0	60,0	37,14	2,86	
51-65	0	11	13	1	25
%	0	44,0	52,0	4,0	

Tabelle 10:

Relation zwischen Hemmstufen des Steffentestes und Alter.

ABB. I.

VERTEILUNG DER HEMMSTUFEN NACH DEM GESCHLECHT

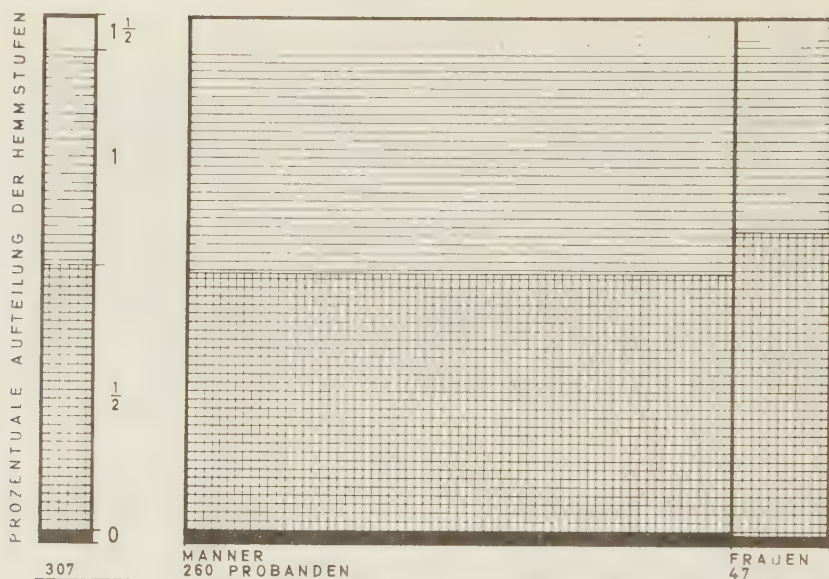
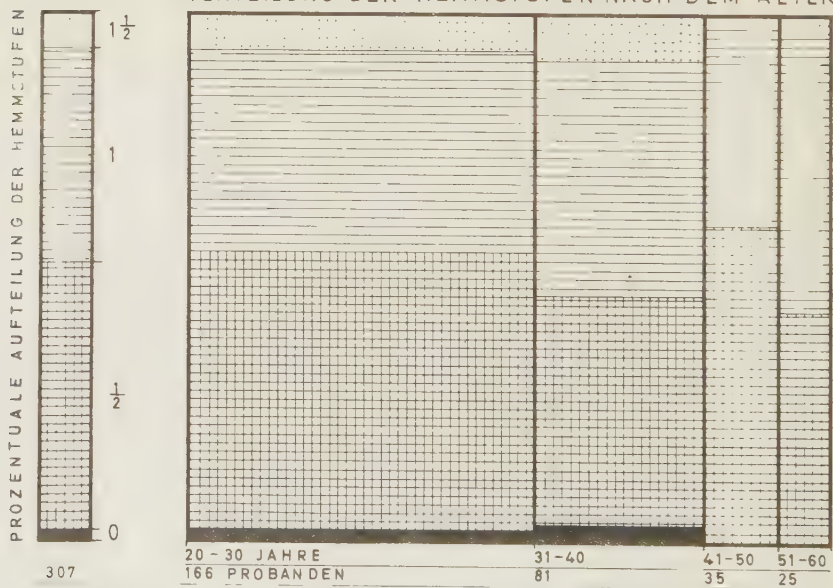


ABB. II

VERTEILUNG DER HEMMSTUFEN NACH DEM ALTER



In Tabelle 11 und Abbildung III wird die Relation zwischen den Hemmstufen und den verschiedenen Blutgruppen 0, A, B und AB ebenfalls ohne Berücksichtigung des Geschlechts dargestellt. Dabei ergaben unsere Untersuchungen eine Hemmung um eine halbe Stufe, d.h. einen Titerabfall um eine halbe Stufe gegenüber der NaCl-Kontrolle, bei der Blutgruppe 0 in 68 Fällen, das sind 53,5 %, bei der Blutgruppe A in 56 Fällen, das sind 44,8 %, bei der Blutgruppe B in 17 Fällen, das sind 58,6 %, und bei der Blutgruppe AB in 13 Fällen, das sind 50,0 %. Eine Hemmung um eine Stufe fand sich in der Blutgruppe 0 bei 47 Probanden, das sind 37,0 %, in der Blutgruppe A bei 55 Probanden, das sind 44,0 %, bei 11 Probanden gleich 37,9 % in der Blutgruppe B und bei 12 Probanden gleich 46,2 % in der Blutgruppe AB. Eineinhalb Stufen Hemmung trat ein in 9 Fällen der Blutgruppe 0, entsprechend 7,10 %, in 11 Fällen der Blutgruppe A, entsprechend 8,8 %, in keinem Fall der Blutgruppe B und in einem Fall der Blutgruppe AB, entsprechend 3,8 %. In je 3 Fällen, gleich 2,4 % der Blutgruppen 0 und A, sowie in einem Fall der Blutgruppe B, gleich 3,5 %, war keine Hemmung abzulesen.

Blutgruppen	Hemmstufen:				Insgesamt
	0	1/2	1	1 1/2	
0	3	68	47	9	127
%	2,4	53,5	37,0	7,1	
A	3	56	55	11	125
%	2,4	44,8	44,0	8,8	
B	1	17	11	0	29
%	3,5	58,6	37,9	0	
AB	0	13	12	1	26
%	0	50,0	46,2	3,8	

Tabelle 11:

Relation zwischen Hemmstufen des Steffentestes und Blutgruppen.

Schließlich wird in der Tabelle 12 und Abbildung IV die Beziehung zwischen den einzelnen Hemmstufen und den verschiedenen Gruppen von Thrombozytenzahlen zur Darstellung gebracht. Die bei den einzelnen Probanden gefundenen Thrombozytenzahlen pro Kubikmillimeter (mm^3) wurden in der oben beschriebenen Weise von 100.000 bis $> 350.000/\text{mm}^3$ in 6 Gruppen aufgeteilt und die Verteilung der Hemmstufen in den verschiedenen Gruppen beschrieben. Es ergab sich folgendes Bild: Eine halbe Hemmstufe war festzustellen in der Gruppe I, d.h. bei den niedrigsten Thrombozytenwerten, in 2 Fällen = 33,4%, in der Gruppe II in 13 Fällen = 50,0 %, in der Gruppe III in 75 Fällen = 51,4 %, in der Gruppe IV in 52 Fällen = 51,5 %, in der Gruppe V in 10 Fällen = 41,6 % und in der Gruppe VI, der Gruppe mit den höchsten Thrombozytenzahlen, in 2 Fällen = 50,0 %. Eine Stufe Hemmung fand sich in 3 Fällen der Gruppe I, das sind 50,0 %, in 11 Fällen der Gruppe II, das sind 42,4 %, in 58 Fällen der Gruppe III, das sind 39,7 %, in 38 Fällen der Gruppe IV, das sind 37,6 %, in 13 Fällen der Gruppe V, das sind 54,2 %, und in 3 Fällen der Gruppe VI, das sind 50,0 %. Um eineinhalb Stufen gehemmt war schließlich das Coombsserum bei einem Probanden, entsprechend 16,6 %, der Gruppe I, ebenso bei einem Probanden der Gruppe II, entsprechend 3,8 %, bei 10 Probanden der Gruppe III, entsprechend 6,8 %, bei 8 Probanden der Gruppe IV, entsprechend 7,9 %, und bei einem Probanden der Gruppe V, entsprechend 4,2 %. Unter der geringen Probandenzahl der Gruppe VI war kein Fall mit einer Hemmung um eineinhalb Stufen. Die 7 Fälle ohne Hemmung des Coombsserums verteilen sich auf die Gruppe II mit einem Fall = 3,8 %, die Gruppe III mit 3 Fällen = 2,16 %, und die Gruppe IV, ebenfalls mit 3 Fällen = 3,0 %.

Thrombo- zytenzahlen in 1000/mm ³	Hemmstufen:				Insgesamt
	0	1/2	1	1 1/2	
I 100-150	0	2	3	1	6
%	0	33,4	50,0	16,6	
II ü. 150-200	1	13	11	1	26
%	3,8	50,0	42,4	3,8	
III ü. 200-250	3	75	58	10	146
%	2,16	51,4	59,7	6,8	
IV ü. 250-300	3	52	38	8	101
%	3,0	51,5	37,6	7,9	
V ü. 300-350	0	10	13	1	24
%	0	41,6	54,2	4,2	
VI ü. 350	0	2	2	0	4
%	0	50,0	50,0	0	

Tabelle 12:

Relation zwischen Hemmstufen des Steffentestes und Thrombozytenzahlen.

ABB. III

VERTEILUNG DER HEMMSTUFEN NACH BLUTGRUPPEN

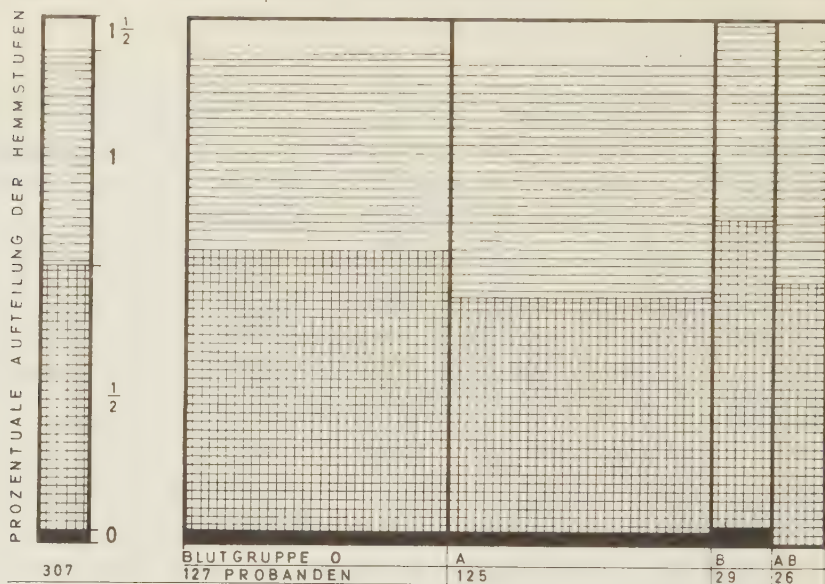
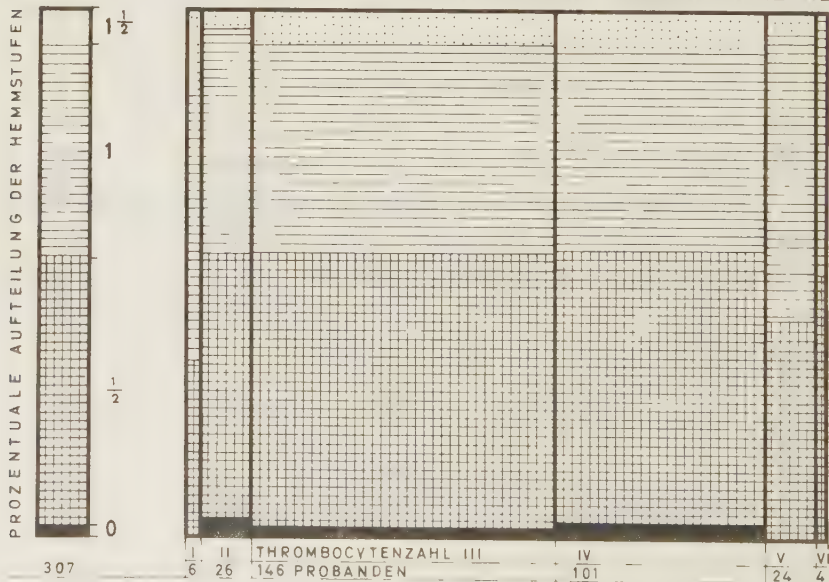


ABB. IV

VERTEILUNG DER HEMMSTUFEN NACH THROMBOCYTENZAHL



IV. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, festzustellen, inwieweit bei einem Kollektiv Gesunder thrombozytäre Auto-Antikörper nachzuweisen sind. Als Untersuchungsmethode wählten wir den von STEFFEN (39, 43) entwickelten "Antiglobulin-Konsumptionstest", der von MIESCHER (24) als die hierfür am besten geeignete Methode angegeben wird. Im Prinzip beruht dieser Test darauf, daß einem auf inkomplette Antikörper zu untersuchenden Serum ein Test-Antigen (z. B. Thrombozyten) zugesetzt wird, welches die homologen Antikörper bindet. Dem entstandenen Antigen-Antikörperkomplex (Antigen + Gammaglobulin) gibt man nach Auswaschen des restlichen Serumeiweißes ein Anti-Gammaglobulinserum (Coombsserum) hinzu. Dabei kommt es zu einer Bindung der Anti-Gammaglobulinantikörper mit dem Komplex, wodurch das Anti-Globulinserum einen Titerverlust erfährt, der in Relation zur Menge der vorhandenen Antikörper des zu prüfenden Serums steht.

Wenn auch diese Methode als das exakteste Verfahren für derartige Untersuchungen gilt, darf doch nicht übersehen werden, daß unspezifische Reaktionen eine Fehlermöglichkeit darstellen. Sie werden als sog. "Basiskonsumption" berücksichtigt (43). Man versteht darunter, daß stets auch eine gewisse Menge Gammaglobulin des zu untersuchenden Serums unspezifisch an das Test-Antigen gebunden wird und das Coombsserum dadurch in der nachfolgenden Reaktion einen Titerverlust erleidet, der nicht durch spezifische Antikörper bedingt ist.

Man beobachtet die Basiskonsumption bei allen Antiglobulin-Konsumptionstesten. Auch unsere Befunde an 307 Seren gesunder Probanden können u. a. als eindeutige Bestätigung dieses Phänomens gelten. Bei Einhaltung einer optimalen Relation zwischen der Menge des Antigens und der des neu zu untersuchenden Serums - in unseren Untersuchungen 5×10^8 Thrombozyten + 2 ccm Serum - kann die Basiskonsumption bis zu 1 1/2 Hemmstufen betragen. Das bedeutet, daß man zur Vermeidung von Fehlerinterpretationen vor allem hinsichtlich der klinischen Diagnostik nur Seren bei einem Titerverlust von mehr als 1 1/2 Hemmstufen als antikörperhaltig im Sinne einer Immunopathie ansehen

darf. Diese Einschränkung schließt nicht aus, daß doch Antikörper in einem Patientenserum - z. B. bei Thrombopenie - vorhanden sein können, ihre Zahl jedoch so klein ist, daß die Basiskonsumption kaum überschritten wird. In diesen Fällen kann nicht sicher beurteilt werden, ob Immun-Antikörper vorliegen oder nicht.

Eine wertvolle Ergänzung unserer Teste an Seren gesunder Probanden geben unsere Routineuntersuchungen an Seren von Patienten mit Verdacht einer Autoaggressionskrankheit. In diesen Fällen wurden frische homogenisierte und lyophilisierte Zellen- und Gewebspräparationen wie Thrombozyten, Leber-, Nieren-, Schilddrüsen-, Muskelgewebe u. a. als Antigen benutzt. Die mit Normalserum geprüfte Basiskonsumption lag auch hier zwischen $1/2$ und $1 \frac{1}{2}$ Stufen. Dabei beobachteten wir in mehr als 50 % der Fälle Titerdifferenzen bis zu 4 Stufen gegenüber der mitgeführten Normalserumkontrolle. Für den negativen Ausfall derartiger Untersuchungen, d. h. Konsumption im Bereich der Basiskonsumption, gilt, wie oben gesagt, daß nicht mit Sicherheit beurteilt werden kann, ob ein immunpathologisches Geschehen zugrunde liegt.

Berücksichtigt man diese Einschränkung, so besagen unsere Ergebnisse, daß in 307 untersuchten Seren gesunder Probanden im Alter von 20 bis 65 Jahren thrombozytäre Auto-Antikörper mit dem Antiglobulin-Konsumptionstest nach STEFFEN nicht nachgewiesen werden konnten. Die einzelnen Hemmstufen, die der Verminderung des Titers des verwendeten Coombsserums gegenüber seinem Ausgangswert entsprechen, wiesen nach Aufschlüsselung der Seren entsprechend Geschlecht, Alter, Blutgruppenzugehörigkeit und Thrombozytenzahl auch hinsichtlich der Höhe der Basiskonsumption keine nennenswerte Verschiebungen auf, die darauf hätten hinweisen können, daß das Phänomen der sog. Basiskonsumption auf der Erfassung einer ganz geringen Menge spezifischer thrombozytärer Auto-Antikörper beruhen würde.

Im einzelnen ergab sich keine gegebenenfalls zu erwartende Parallele zwischen niedrigen Thrombozytenwerten und hoher Basiskonsumption oder evtl. hohem Alter und hoher Basiskonsumption. Die Aufteilung nach Blutgruppen zeigte allerdings bei den zahlenmäßig großen Gruppen 0 und A eine geringe Ver-

schiebung zugunsten höherer Basiskonsumption bei den Seren der Blutgruppe A. Das Vorliegen eines dem O-Thrombozyten-Antigen korrespondierenden Iso-Antikörpers im Serum der Blutgruppe A, der diese geringfügige durchschnittliche Erhöhung der Titerstufen bei den Probandenserien bewirken könnte, mußte immerhin erwogen werden. Solche Überlegungen sind umso mehr am Platze, als der Streubereich der Basiskonsumption bei exakter Versuchsanordnung doch in konstanten Grenzen bleibt und wir bei der Untersuchung solcher Seren grundsätzlich Thrombozyten derjenigen Blutgruppen eingesetzt haben, gegen welche Iso-Antikörper im ABO-System vorhanden waren. Die Vergleichszahlen der Probanden der Blutgruppe B und AB sind zu gering, um sinnvollerweise in obige Erwägung einbezogen werden zu können. Entsprechendes gilt allgemein für Vergleiche innerhalb der Tabellen oder Abbildungen: Es ist zu berücksichtigen, daß die Rubriken oder Säulen oft sehr unterschiedliche Probandenzahlen repräsentieren. Das bedeutet beispielsweise, daß 6 Gesamtfälle der Thrombozytengruppe I gegenüber 146 Fällen der Gruppe III ihren Aussagewert bezüglich der Hemmstufenverteilung verlieren müssen.

Die Aufteilung der Thrombozytenzahlen nach Geschlecht, Alter und Blutgruppe sollte dazu dienen, diese mit einer thrombopenischen Wirkung eines evtl. nachzuweisenden thrombozytären Auto-Antikörpers und einer parallellaufenden Hemmstufenverschiebung in entsprechender Weise zu korrelieren. Das Ergebnis brachte nur geringfügige Änderungen gegenüber der Verteilung des Gesamtkollektivs. Die in der Literatur angegebenen Normalwerte der Thrombozytenzahlen, die zwischen 200.000 und 300.000/mm³ liegen, wurden ebenso wie die angegebene große Streubreite bestätigt. In diesem Ausfall unserer Untersuchungen ist eine Bestätigung der Zuverlässigkeit unserer Ausgangsbasis zu sehen.

Zum Abschluß der Diskussion sei noch darauf hingewiesen, daß die zur Untersuchung verwandten Seren von gesunden Spendern unserer Blutbank stammten, welche unter ständiger, achtwöchentlicher ärztlicher Kontrolle standen. Damit war anamnestisch gesichert, daß keine Bluttransfusionen oder Seruminjektionen erfolgt waren und mit großer Wahrscheinlichkeit auch eine anderweitige Sensibilisierung nicht stattgefunden hatte.

C. Schluß

I. Zusammenfassung

1. Einleitend wird auf das Problem der Autoimmunisierung als Sonderfall des allgemeinen immunologischen Geschehens eingegangen.
2. Eingehender wird die Autoimmunopathie der Thrombozyten behandelt, wobei der Unterschied zwischen passiver Immunaggression und Autoimmunaggression am Beispiel der Arzneimittel-Purpura und der chronischen ITP (idiopathische thrombopenische Purpura), welche in vielen Fällen serologisch mit dem Antiglobulin-Konsumptionstest diagnostiziert werden kann, dargestellt wird. Es wird auf die Bedeutung der Untersuchung eines gesunden Kollektivs bezüglich der Beurteilung serologischer Ergebnisse hingewiesen. Hinsichtlich der thrombozytären Auto-Antikörper war dieses Problem die Fragestellung der vorliegenden Arbeit.
3. Der Hauptteil beginnt mit einer Übersicht über bisherige Veröffentlichungen zum Nachweis thrombozytärer Auto-Antikörper.
Im zweiten Abschnitt wird nach vorangehender Darstellung der Originalmethode des Antiglobulin-Konsumptionstestes nach STEFFEN zum Nachweis thrombozytärer Auto-Antikörper im Serum die von uns angewandte, gering abgewandelte Methode erklärt.
4. Bei der Darstellung der Untersuchungsergebnisse wird zunächst die Aufteilung der bei den einzelnen Probanden gefundenen Thrombozytenzahlen pro Kubikmillimeter (mm^3) nach Geschlecht, Alter und Blutgruppe mitgeteilt.
5. Die weitere Auswertung der Untersuchung von 307 Seren gesunder Probanden (Stammspender einer Blutbank) bezieht sich auf thrombozytäre Auto-Antikörper und ihre Beziehung zu Geschlecht, Alter, Blutgruppe und Throm-

bozytenzahl pro mm^3 . Zahlenmäßiger Ausdruck für die thrombozytären Auto-Antikörper ist die Titerdifferenz eines Commbsserums nach Einwirken auf mit Probandenserum vorbehandelte Thrombozyten gegenüber einer NaCl-Kontrolle. Für die Bewertung muß dabei die genannte Basiskonsumption beachtet werden. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabellen und Abbildungen dargestellt und beschrieben.

6. Bei unseren Untersuchungen konnten wir in keinem Fall mit Sicherheit thrombozytäre Auto-Antikörper im Serum Gesunder nachweisen. 93,2 % der untersuchten Seren wiesen Hemmstufen zwischen null und eins auf, der Rest, 6,8 %, eineinhalb Stufen. Diese Befunde bestätigen insbesondere durch ihre gleichförmige Verteilung in Bezug auf Geschlecht, Alter, Blutgruppe und Thrombozytenzahl pro mm^3 erstmals an einem größeren Kollektiv Gesunder das Phänomen der Basiskonsumption (Titerabfall eines Normalserums gegenüber der mitgeführten NaCl-Kontrolle). Darüberhinaus führt die durchschnittliche Erhöhung der Titerstufen bei den Probanden der Blutgruppe A zur Erwägung, ob hier nicht ein dem Thrombozyten-O-Antigen korrespondierender thrombozytärer Iso-Antikörper vorliegen könnte.

C. II. Literaturverzeichnis

1. DACIE, I.V.: Die erworbene hämolytische Anämie vom Auto-Antikörper-Typ. in HELLMEYER, L. und A. HITTMAYER Handbuch der gesamten Hämatologie. Bd. III/1, Verlag Urban-Schwarzenberg, München-Berlin (1960)
2. DAUSSET, J., Y. BERGEROT-BLONDEL und. M. COLLIN: Hémagglutination passiv des hématies tannées et recouvertes d'une substance plasmatique présente dans la fraction I et ses rapports avec la fibrinolyse du caillot.
Vox Sang. 1, 95 (1956)
3. DAUSSET, J., DELAFONTAINE und J. FLEURIOT: Agglutination et destruction in vitro des plaquettes normales par le sérum d'une malade atteinte de purpura thrombopénique aigu. Inhibition par ce sérum de la rétraction du caillot normal.
Sang. 23, 373 (1952)
4. DAUSSET, J.: Immuno-hématologie biologique et clinique.
Editions Flammarion, Paris (1956)
zit. nach (24).
5. DAUSSET, J. und H. ERECY: Test direct de consommation de l'antiglobuline sur le leucocytes et plaquettes.
Vox Sang. (Basel) 3, 197 (1958)
6. DAUSSET, J. und J. COLOMBANI: Importance des anticorps antileucocytaires et anti-plaquettaires en pratique transfusionnelle.
Transfusion 1, 249 (1958)
7. EVANS, R.S. und R.T. DUANE: Acquired Hemolytic Anemia.
The significance of thrombocytopenia and leucopenia.
Blood 4, 1196 (1949)

8. EVANS, R. S., K. TAKAHASHI, R. T. DUANE, R. PAYNE und
LIU CHI-KONG: Primary thrombocytopenic purpura
and acquired hemolytic anemia. Evidence
for a common etiology.
Arch. int. Med. 87, 48 (1951)
9. GRABAR, P.: Grundbegriffe der Immunologie.
in: MIESCHER, P. und K. O.
VORLAENDER
Immunpathologie in Klinik und For-
schung.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1961)
10. GRABAR, P. und A. EYQUEM: Immunpathologie des Blutes.
in: HEILMEYER, L. und A.
HITTMAYER. Handbuch der gesamten
Hämatologie.
Bd. II/2, 1. Halbjahr
Verlag Urban-Schwarzenberg
München-Berlin (1959)
11. HACKETT, E. und A. THOMPSON: Anti-lens antibody in human sera.
Lancet 26, 663 (1954)
12. HARRINGTON, W.J., J.W. HOLLINGSWORTH und C.V. MOORE:
Demonstration of a thrombocytopenic
factor in the blood of patients with
thrombocytopenic purpura.
J. Lab. clin. Med. 38, 1 (1951)
13. HARRINGTON, W.J., C.S. SPRAGUE und R.D. LANGE:
Platelet transfusion and the pathogenesis
of ITP.
J. Amer. med. Ass. 150, 1193 (1952)
zit. nach (24)
14. HARRINGTON, W.J., C.S. SPRAGUE, C.V. MOORE und R. DUBACH:
Immunologic mechanism in idio-
pathic and neonatal thrombocytopenic
purpura.
Ann. int. Med. 38, 433 (1953)
15. HARRINGTON, W.J.: The clinical significance of antibodies
for platelets.
Sang. 25, 712 (1954)
16. HARRINGTON, W.J., V. MINNICH und G. ARIMURA:
The autoimmune thrombocytopenias.
Progress in hematology.
Grune and Stratton, New York (1956)

17. KABAT, E. A. und M. M. MAYER: Experimental Immunochemistry.
2. Aufl., Thomas, Springfield/III
USA (1961) S. 445
18. KELLER, W. und A. WISKOTT: Lehrbuch der Kinderheilkunde.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1961)
19. KEMKES, B. :
Leitfaden der medizinischen Mikrobiologie.
Editio Cantor Verlag Aulendorf
(Württbg.), (1949)
20. MANNHEIMER, E., E. E. REIMER und E. WINDHAGER:
Immunthrombopenie mit akutem Verlauf.
Wien. Z. inn. Med. 35, 493 (1954)
21. MATOTH, J., E. ELIAN, D. NELKEN und A. C. NEVO:
Spezifity of lytic factors for
erythrocytes, leucocytes and
platelets in a case of pancytopenia.
Blood 11, 735 (1956)
22. MAUPIN, B. :
Les plaquettes sanguines de l'homme.
Masson et Cie., Paris (1954)
zit. nach (24)
23. MICHAEL, S. R., I. L. VURAL, F. A. BASSEN und L. SCHAEFER:
The hematologic aspects disseminated
lupus erythematosus.
Blood 6, 1059 (1951)
24. MIESCHER, P. :
1. Die experimentellen Grundlagen der
Immunologie der Leukozyten und Thrombozyten.
2. Die Immnhämatologie der Leukozyten und Thrombozyten.
in: MIESCHER, P. und K. O. VORLAENDER
Immunpathologie in Klinik und Forschung.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1961)
25. MOULINIER, J. :
Le test de consommation d'antiglobuline
appliqué à la recherche des anticorps
antithrombocytes.
Sang. 26, 811 (1955)
26. MOULINIER, J. :
L'Iso-Immunthrombopénie des la
maladie hémolytique du nouveau-né.
114. Congrès Nat. Transf. Sang.
Bordeaux (1956)

27. MÜLLER, W.: Immunhämatologische Untersuchungen bei Leukopenien und Agranulozytosen. Klin. Wschr. 34, 1057 (1956)
28. PFEIFFER, E. F. und H.E. BRUCH: Autoallergie in der Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis. Erg. inn. Med. 4, 670 (1953)
29. SARRE, H. und K. ROTHER: Auto-Antikörper in der Nierenpathologie. Klin. Wschr. 32, 410 (1954)
30. SAUER, A.J. und J.J. van LOGHEM: A study on the occurrence of platelet antibodies. Vox Sang. 4, 120 (1954)
31. SCHULTZE, H.E.: Immunitätslehre. in: COBET, R., K. GUTZEIT und H.E. BOCK. Klinik der Gegenwart Bd. IX Verlag Urban-Schwarzenberg München-Berlin (1960)
32. STEFANINI, M. und J.H. SILVERBERG: Studies on platelets I. Amer. J. clin. Path. 21, 1030 (1951)
33. STEFANINI, M. und G. PLITMAN: Antigenicity of platelets and evidence for platelet groups in humans. J. clin. Invest. 32, 606 (1952)
34. STEFANINI, M. und J.B. CHATTERJEA: Studies on platelets IV. Thrombocytopenic factor in normal human blood, plasma or serum. Proc. Sec. exp. Biol. N. Y. 79, 623 (1952)
35. STEFANINI, M., J.B. CHATTERJEA, und E. ADELSON: Immunologic aspects of idiopathic thrombocytopenic purpura. J. clin. Invest. 31, 665 (1952)
36. STEFANINI, M. und E. ADELSON: Studies on platelets: Heterophile reaktion due to Forssman antibody in patients with idiopathic and secondary thrombocytopenic purpura. Amer. J. clin. Path. 22, 1164 (1952)

37. STEFANINI, M., J. B. MEDNIKOFF und G.J. PLITMAN:
Neonatal thrombopenia.
Int. Rec. Med. 167, 27 (1954)
38. STEFFEN, C.:
Untersuchungen über das Vorkommen
eines in Polyarthritisseren und in
Seren von Endocarditiskranken auf-
scheinenden und an Bindegewebszellen
sessil werdenden Antikörpers.
Wien. Z. inn. Med. 35, 422 (1954)
39. STEFFEN, C.:
Untersuchungen über die Verwendung
der Antihumanglobulin-Ablenkungs-
methode zum Nachweis von Thrombo-
zyten-Antikörpern.
Wien. Z. inn. Med. 36, 246 (1955)
40. STEFFEN, C.:
Überblick und weitere Untersuchungen
über Agranulozytosen und Leukopenien
mit positivem Leukozyten-Antikörper-
befund.
Wien. Z. inn. Med. 37, 245 (1956)
41. STEFFEN, C.:
Weitere Untersuchungen und Überblick
über die verschiedenen immunologisch
bedingten Formen der hämorrhagischen
Diathese.
Wien. Z. inn. Med. 37, 452 (1956)
42. STEFFEN, C.:
Untersuchungen über die Eigenschaften,
Isolierung und pathogenetische Bedeu-
tung von Auto-Antikörpern.
Acta haematologica (bei S. Karger,
Basel, New York) 20, 201 (1958)
43. STEFFEN, C.:
Der Antiglobulin-Konsumptionstest.
Seine theoretischen Grundlagen, Tech-
nik und Anwendungsbereiche.
Klin. Wschr. 40, 613 (1962)
44. STEFFEN, C.:
Antiglobulin-Konsumptionstest.
Bibliotheca haematologica (bei S. Karger,
Basel, New York)
14, 66 (1963)
45. STEFFEN, C.:
Immunogranulozytopenien.
in: HEILMEYER, L. und A. HITTMAIR.
Handbuch der gesamten Hämatologie
Bd. IV Teil 2.
Verlag Urban-Schwarzenberg,
München-Berlin (1963)

46. STEFFEN, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie. Thieme-Verlag, Stuttgart (1968)
47. VERSTRAETE, M.J. und J. VANDENBROUCKE: Thrombocytopénies par agglutinines, Revue du problème et présentation de nouveaux cas. Acta haemat. 13, 129 (1955)
48. WEINREICH, J.: Die Immunthrombozytopenien. Ein neues Gebiet der Immunhämatologie Klin. Wschr. 33, 505 (1955)
49. WITEBSKY, E., N. ROSE und S. SCHULMAN: Studies on organ specificity. J. Immunol. 75, 269 (1955)
50. WITEBSKY, E. und N. ROSE: Production of rabbit thyroid antibodies in the rabbit. J. Immunol. 76, 408 (1956).

Bevor ich die Arbeit abschlieÙe, möchte ich Herrn Professor Dr. med. F. Heiss für die Überlassung des Themas und seine stete Hilfsbereitschaft bei der Fertigstellung der Arbeit herzlich danken.

Lebenslauf

Am 26. 12. 1925 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Willi Schulte und seiner Ehefrau Else, geborene Fleury, in Duisburg geboren. Mein Vater starb 1935.

Von 1932 bis 1944 Volks- und Oberschulbesuch. 1944 Abitur und Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg. Ab Februar 1944 Soldat, 1945 bis 1947 französische Gefangenschaft. Nach Rückkehr Absolvierung eines "Sonderlehrgangs für Kriegsteilnehmer" zur Erlangung der Hochschulzulassung, da die Reifeprüfung von 1944 nicht voll anerkannt wurde. Aus nachkriegsbedingten Gründen keine sofortige Verwirklichung des Studiums, sondern zunächst kaufmännische Ausbildung mit Handlungsgehilfenprüfung und nachfolgender Tätigkeit im Großhandel. Von 1953 bis 1959 Medizinstudium in Köln, Marburg, Freiburg, Gießen. Ärztliche Vorprüfung 1956 in Marburg, Staatsexamen 1960 in Gießen. Medizinalassistentenzeit an den Gießener Universitätskliniken. Bestallung am 30. 4. 1963. Von Mai 1963 bis Mai 1964 Assistent an der medizinischen Klinik in Gießen, danach Übernahme von Praxisvertretungen. Von Mai 1965 bis Februar 1967 wissenschaftlicher Assistent am Bakteriologisch-Serologischen Institut des Allgemeinen Krankenhauses Heidberg in Hamburg. Anschließend abermalige Vertretung in Labor- und Allgemeinpraxis. Seit dem 1. Januar 1968 Assistent an der inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Schorndorf.

Ich bin verheiratet und habe zwei Kinder.

